

Cara uji kimia-Bagian 8: Penentuan kadar *Total Volatil Base Nitrogen* (TVB-N) dan *Trimetil Amin Nitrogen* (TMA-N) pada produk perikanan



Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Istilah dan definisi	1
3 Prinsip.....	1
4 Penentuan TVB-N.....	1
5 Penentuan TMA-N	3
6 Pelaporan	4
7 Keamanan dan keselamatan kerja	4
Lampiran A (normatif) Pembuatan reagensia.....	5
Bibliografi	7



Prakata

Dalam rangka memberikan jaminan mutu dan keamanan pangan terhadap komoditas produk perikanan yang akan dipasarkan di dalam dan luar negeri, maka perlu disusun suatu Standar Nasional Indonesia (SNI) tentang metode uji yang dapat memenuhi jaminan tersebut.

Standar ini merupakan revisi dari SNI 01-4495-1998 oleh Panitia Teknis 65-05 Produk Perikanan dalam rangka perbaikan karena pengujian TVB-N metode *conway* tidak dapat dilakukan uji verifikasi dengan baik, maka metode ini diperbaharui diambil dari *Journal of European Union* 22 Desember 2005. Namun, karena pengujian TMA-N belum didapatkan metode alternatif pengganti metode *conway* maka penggunaan metode *conway* masih dipertahankan. Kedua metode pengujian telah dirumuskan melalui rapat konsensus pada tanggal 21 Desember 2006 di Bogor. Dihadiri oleh panitia teknis, wakil-wakil produsen, konsumen, asosiasi, lembaga penelitian, perguruan tinggi serta instansi terkait sebagai upaya untuk meningkatkan jaminan mutu dan keamanan pangan.

Berkaitan dengan penyusunan Standar Nasional Indonesia ini, maka aturan-aturan yang dijadikan dasar atau pedoman adalah:

1. Undang-Undang No. 31 tahun 2004 tentang Perikanan.
2. Peraturan Pemerintah No. 69 tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan.
3. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No. KEP. 01/MEN/2002 tentang Sistem Manajemen Mutu Terpadu Hasil Perikanan.
4. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No. KEP. 06/MEN/2002 tentang Persyaratan dan Tata Cara Pemeriksaan Mutu Hasil Perikanan yang Masuk ke Wilayah Republik Indonesia.
5. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No. KEP. 21/MEN/2004 tentang Sistem Pengawasan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan untuk Pasar Uni Eropa.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 16 Juli 2007 sampai dengan 16 Oktober 2007 dan pemungutan suara pada tanggal 21 Oktober 2008 sampai dengan 21 Januari 2009 dengan hasil akhir RASNI.

Cara uji kimia-Bagian 8: Penentuan kadar *Total Volatil Base Nitrogen* (TVB-N) dan *Trimetil Amin Nitrogen* (TMA-N) pada produk perikanan

1 Ruang lingkup

Standar ini digunakan untuk menentukan kadar *Total Volatil Base Nitrogen* (TVB-N) dan *Trimetil Amin* (TMA-N) pada produk perikanan.

2 Istilah dan definisi

2.1

total volatil base

jumlah basa nitrogen yang mudah menguap (*volatil*)

2.2

trimetil amin

jumlah amin dalam bentuk trimetil

2.3

destilasi

proses pemisahan zat dari campurannya berdasarkan titik didih atau tekanan uap

3 Prinsip

3.1 TVB-N

Contoh diekstraksi menggunakan larutan asam perklorat 6 %. Ekstrak dibasakan dengan penambahan larutan NaOH 20 % kemudian didestilasi uap, destilatnya ditampung dalam larutan H_3BO_3 3 %. Konsentrasi TVB-N dalam destilat ditentukan dengan cara titrasi menggunakan larutan HCl 0,02 N.

3.2 TMA-N

Contoh diekstraksi dengan larutan Asam Trikloro Asetat (TCA) 7 %, ekstrak ditambah formaldehid 37 % disimpan dalam cawan *conway* diinkubasi pada suhu 35 °C selama 2 jam atau pada suhu ruang selama satu malam, basa nitrogen diserap oleh larutan H_3BO_3 2 %. Konsentrasi TMA-N ditentukan dengan cara titrasi menggunakan larutan HCl 0,02 N.

4 Penentuan TVB-N

4.1 Pereaksi

- Asam perklorat 6 %;
- NaOH 20 %;
- H_3BO_3 3 %;
- $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,02 N;
- Silcon anti-foaming*;
- Indikator fenolftalein;
- Indikator tashiro;
- Indikator metil merah.

4.2 Peralatan

- blender;
- buret;
- corong gelas;
- erlenmeyer;
- gelas piala;
- kertas saring kasar;
- labu takar;
- seperangkat alat destilasi uap;
- timbangan analitik dengan ketelitian 0,0001g.

4.3 Prosedur analisis

4.3.1 Ekstraksi

- Timbang 10 g contoh $\pm 0,1$ g dengan menggunakan gelas piala.
- Tambahkan 90 ml asam perklorat (PCA) 6 %.
- Homogenkan contoh dengan menggunakan homogenizer selama 2 menit.
- Saring contoh dengan menggunakan kertas saring kasar.

CATATAN Ekstrak dapat disimpan paling lama 7 hari pada suhu 2 °C - 6 °C.

4.3.2 Destilasi

- Masukkan ekstrak sebanyak 50 ml ke tabung destilasi.
- Tambahkan beberapa tetes indikator *Fenolftalein* (larutan tidak berwarna dan dalam keadaan asam). Tambahkan beberapa tetes silikon anti-foaming.
- Pasangkan tabung destilasi pada peralatan destilasi uap. Tambahkan 10 ml NaOH 20 % (pada tahap ini campuran bersifat basa, ditandai dengan warna merah).
- Siapkan penampung erlenmeyer yang berisi 100 ml H_3BO_4 3 % dan 3 tetes - 5 tetes indikator Tashiro (larutan berwarna ungu).
- Lakukan destilasi uap kurang lebih 10 menit sampai memperoleh destilat 100 ml sehingga pada volume akhir terdapat kurang lebih 200 ml larutan berwarna hijau.
- Lakukan destilasi larutan blanko dengan mengganti ekstrak contoh dengan 50 ml PCA 6 %, pengerjaan selanjutnya sama dengan contoh.

4.3.3 Titrasi

- Lakukan titrasi terhadap destilat contoh dan blanko dengan menggunakan larutan HCl 0,02 N.
- Titik akhir titrasi ditandai dengan terbentuknya kembali warna ungu.

4.3.4 Perhitungan

$$TVB - N(mg/100g) = \frac{(V_c - V_b) \times N \times 14,007 \times 2 \times 100}{W}$$

dengan:

- | | | |
|--------|---|---|
| V_c | = | volume larutan HCl pada titrasi contoh; |
| V_b | = | volume larutan HCl pada titrasi blanko; |
| N | = | normalitas larutan HCl; |
| W | = | berat contoh (g); |
| 14,007 | = | berat atom nitrogen; |
| 2 | = | faktor pengenceran. |

CATATAN

- Perbedaan duplo hasil analisis tidak boleh lebih dari 2 mg/100 g.
- Yakinkan alat destilasi sudah berfungsi dengan baik, dengan cara mendestilasi larutan yang mengandung 9,5510 mg NH_4Cl dalam 10 ml air yang setara dengan 50 mg TVB-N/100 g.
- *Standar Deviasi Reproducibility* $S_r = 1,20$ mg/100 g. *Standar Deviasi Comparability*.
- $S_R = 2,50$ mg/100 g, yang ditentukan sekurang-kurangnya 6 kali penentuan.

5 Penentuan TMA-N**5.1 Perekasi**

- Larutan TCA 7 %;
- Larutan K_2CO_3 (1:1);
- Larutan H_3BO_3 2 %;
- Formalin pekat;
- Indikator *Conway*;
- Larutan HCl 0,02 N.

5.2 Peralatan

- Blender;
- Cawan *conway*;
- Corong gelas;
- Erlenmeyer;
- Gelas piala;
- Inkubator;
- Kertas saring kasar;
- Mikro buret;
- Pipet volumetrik 0,5 ml, 1 ml, 2 ml;
- Timbangan analitik dengan ketelitian 0,0001 g.

5.3 Prosedur analisis**5.3.1 Ekstraksi**

- Timbang 25 g contoh dalam gelas piala, tambahkan 75 ml larutan TCA 7 %.
- Blender hingga homogen, saring dengan kertas saring kasar.
- Siapkan cawan *conway* yang telah diolesi vaselin pada bagian tutup dan letakkan dalam posisi miring.
- Pipet satu ml filtrat contoh masukkan kedalam salah satu sisi pada *outer chamber*.
- Pipet satu ml larutan K_2CO_3 (1:1) masukkan kedalam salah satu sisi yang lain pada *outer chamber*.
- Pipet 2 ml larutan H_3BO_3 2 % masukkan ke dalam *inner chamber*.
- Tambahkan 0,5 ml formalin pekat pada sisi *outer chamber* tempat larutan K_2CO_3 (1:1).
- Tambahkan dua tetes indikator *conway* pada *inner chamber* tempat larutan H_3BO_3 2 %.
- Tutup cawan *conway* dengan rapat, goyangkan secara perlahan sehingga larutan yang ada pada kedua sisi *outer chamber* bercampur.
- Lakukan uji blanko dengan mengganti satu ml filtrat contoh dengan satu ml larutan TCA 7 %.

5.3.2 Inkubasi

Simpan cawan *conway* yang berisi filtrat dan blanko pada alat inkubator suhu 35 °C selama dua jam atau pada suhu kamar selama satu malam.

5.3.3 Titrasi

- Lakukan titrasi terhadap hasil inkubasi dengan menggunakan larutan HCl 0,02 N.
- Titik akhir titrasi ditandai dengan terbentuknya kembali warna merah muda.

5.3.4 Perhitungan

$$\text{mg - N / 100g} = \frac{(V_c - V_b) \times N \times 14,007 \times f_p (100) \times (100)}{W}$$

dengan:

V_c	= volume larutan HCl pada titrasi contoh
V_b	= volume larutan HCl pada titrasi blanko
N	= normalitas larutan HCl
W	= berat contoh (g)
14,007	= berat atom nitrogen
$F_p (100)$	= faktor pengenceran
100	= kandungan TVB dalam berat 100 g contoh

6 Pelaporan

- Jika angka desimal kurang dari 5 (lima) maka pembulatan ke bawah, tetapi bila lebih dari 5 (lima) pembulatan ke atas.

CONTOH:

14,454 dibulatkan menjadi 14,45
14,466 dibulatkan menjadi 14,47

- Jika angka ke tiga di belakang koma 5 (lima), dan angka kedua genap, maka angka lima tersebut menjadi hilang tetapi bila angka kedua ganjil maka pembulatan ke atas.

CONTOH:

14,765 dibulatkan menjadi 14,76
14,475 dibulatkan menjadi 14,48

7 Keamanan dan keselamatan kerja

Untuk menjaga keamanan dan keselamatan kerja selama melakukan analisa maka perlu diperhatikan hal-hal sebagai berikut:

- Cuci tangan sebelum dan sesudah melakukan analisa.
- Gunakan jas laboratorium dan masker selama bekerja.

Lampiran A (normatif) Pembuatan reagensia

A.1 Pembuatan reagensia (TVB-N)

- a) Pembuatan 1000 ml Asam Perklorat 6 % dari Asam Perklorat pekat (70 % - 72 %)
Pipet 84,50 ml asam perklorat pekat (70 % - 72 %) masukkan ke dalam labu takar 1000 ml kemudian ditambah dengan akuades sampai tanda batas.
- b) Pembuatan 100 ml NaOH 20 %
Timbang 20 g NaOH dalam gelas piala dilarutkan dengan 100 ml akuades.
- c) Pembuatan 1l HCl 0,02 N
Pengenceran HCl pekat 12,5 N menjadi 100 ml HCl 1 N
Pipet 8 ml HCl pekat 12,5 N masukkan dalam labu takar 100 ml, larutkan dengan akuades dan tepatkan sampai tanda batas.
- d) Pembuatan 100 ml HCl 0,02 N dari HCl 1 N
Pipet 2 ml HCl 1 N masukkan dalam labu takar 100ml, larutkan dengan akuades dan tepatkan sampai tanda batas.
- e) Pembuatan 1 l H₃BO₃ 3 %
Timbang 30 g H₃BO₃ dalam gelas piala larutkan dengan akuades 1000 ml.
- f) Pembuatan Indikator Fenolftalein
Timbang 1 g Fenolftalein dalam gelas piala larutkan dalam 100 ml ethanol absolut.
- g) Pembuatan Indikator Tashiro
Timbang 0,2 g metil merah dalam gelas piala dan 0,1 metilin biru dalam beacker glass larutkan dalam 100 ml ethanol absolut.
Standarisasi HCl 0,02 N dengan Na₂B₄O₇·10 H₂O 0,02 N
- h) Pembuatan larutan Na₂B₄O₇ 0,02 N
Timbang 0,3814 g Na₂B₄O₇·10 H₂O larutkan dalam air mendidih dalam gelas piala, masukkan dalam labu takar 100ml dan tepatkan dengan akuades sampai tanda batas.
Tentukan nilai normalitas larutan Na₂B₄O₇ 0,02 N dengan perhitungan:
$$N \text{ larutan Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 = \frac{\text{g berat Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \text{ 0,02 N}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{\text{Vol}} \times 2 \text{ (valensi)}$$
- i) Pembuatan indikator metil merah 1 %
Timbang 1 g metil merah dalam gelas piala larutkan dengan 100 ml ethanol absolut
- j) Standarisasi larutan HCl 0,02 N
Pipet 10 larutan Na₂B₄O₇·10 H₂O tambahkan dua tetes metil merah kemudian titrasi dengan larutan HCl 0,02 N yang akan distandarisasi, titik akhir sampai terjadi perubahan warna kuning menjadi merah
- k) Perhitungan normalitas larutan HCl standar:

$$V_{\text{HCL}} \times N_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} \times N_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7}$$

A.2 Pembuatan reagensia (TMA-N):

- a) Larutan TCA 7 %
Timbang 7 g Trichlorasetat larutkan dalam 100 ml akuades
- b) Larutan K_2CO_3 (1:1)
Timbang 10 g K_2CO_3 larutkan dalam 10 ml akuades
- c) Larutan H_3BO_3 2 %
Timbang 2 g H_3BO_3 larutkan dalam 100 ml akuades
- d) Indikator *conway*
Larutan *Brom Cresol Green* (BCG) 0,1 % dalam etanol
Timbang 0,1 g *Brom Cresol Green* larutkan dalam 100ml etanol
Larutan Metil Merah (MM) 0,1 % dalam etanol
Timbang 0,1g Metil Merah larutkan dalam 100 ml etanol
Pipet 10 ml larutan BCG 0,1 % dalam gelas piala tambahkan 20 ml larutan MM 0,1 % (1:2)



Bibliografi

Anninimous, 2005., Determination of the concentration of TVB-N in fish and fishery products, Official Journal of the European Union, Section II, Chapter III, p.l. 338/37-39.

Data validasi metode pengujian Total Volatil Base (TVB) pada produk perikanan, Laboratorium Kimia BBP2HP 2006.













BADAN STANDARDISASI NASIONAL - BSN
Gedung Manggala Wanabakti Blok IV Lt. 3-4
Jl. Jend. Gatot Subroto, Senayan Jakarta 10270
Telp: 021- 574 7043; Faks: 021- 5747045; e-mail : bsn@bsn.go.id